

BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas antimikroba ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L) terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa.). Ekstrak daun mengkudu yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari Materia Medika, kota Batu, Jawa Timur. Ekstrak daun mengkudu adalah ekstrak yang diperoleh dengan melakukan ekstraksi daun mengkudu kering yang telah dihaluskan dengan pelarut etanol 96% kemudian diuapkan dengan *evaporator*. Zat kimia berupa etanol kemungkinan tidak berpengaruh pada efek antimikroba yang terjadi, karena ekstrak etanol telah mengalami proses evaporasi.

Bakteri Aa didapatkan dari laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya yang ditanamkan pada BHIA dan telah diidentifikasi ulang di laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Hasil penelitian ini diperoleh dengan mengamati kadar bunuh minimum (KBM) dengan menghitung jumlah koloni bakteri pada agar yang telah *distriking* dari tabung berisi ekstrak daun mengkudu dan bakteri.

Uji pendahuluan sebelum penelitian utama telah dilakukan berbagai uji. Pertama, dilakukan uji menggunakan metode sumuran untuk mengetahui zona hambat dengan konsentrasi 3.125%, 6.25%, 12.5%, 25%, 50%, 100%. Uji pendahuluan selanjutnya adalah dengan menggunakan dilusi tabung. Metode ini menggunakan medium cair dan medium padat. Ekstrak daun mengkudu menyebabkan kekeruhan pada medium cair sehingga kadar hambat minimum (KHM) tidak dapat dievaluasi, namun kadar bunuh minimum (KBM) masih dapat

dievaluasi dengan inokulasi medium cair hasil inkubasi ke dalam medium padat.

Berdasarkan seluruh penelitian pendahuluan yang telah dilakukan maka disimpulkan bahwa penelitian utama dapat dilakukan untuk menguji kadar bunuh minimum (KBM) ekstrak daun mengkudu terhadap bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan metode dilusi tabung. Konsentrasi yang digunakan untuk pengulangan pada penelitian utama adalah 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, 12%, kontrol negatif, dan kontrol positif. Dasar penggunaan konsentrasi ini dapat dilihat pada Bab 5.

Uji pengulangan yang dilakukan adalah sebanyak tiga kali pada setiap kelompoknya. Pengamatan yang dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L) terhadap *Aa* mampu menurunkan jumlah koloni bakteri dengan rata-rata jumlah koloni bakteri pada konsentrasi 2% sebanyak 528.66, pada konsentrasi 4% sebanyak 372.33, pada konsentrasi 6% sebanyak 188.66, pada konsentrasi 8% sebanyak 1.33, dan pada konsentrasi 10% sebanyak 0 koloni. Kontrol positif klorheksidin glukonat 0.2% menunjukkan rata-rata koloni sebanyak 0 sedangkan kontrol negatif menunjukkan rata-rata jumlah koloni sebanyak 1433. Hal ini berarti semakin besar konsentrasi ekstrak daun mengkudu yang diberikan, semakin sedikit jumlah koloni bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang terbentuk.

Pengulangan konsentrasi 6% dan 8% menunjukkan selisih perbedaan jumlah koloni bakteri *Aa* yang sangat signifikan, hal ini kemungkinan disebabkan oleh kekurangan dari penelitian yaitu pada saat pengambilan satu mata ose dari suspensi bakteri dalam broth tidak sama pada tiap pengulangan sehingga menyebabkan jumlah koloni bakteri tiap pengulangan pada konsentrasi tertentu ada perbedaan yang sangat signifikan (Hertanti, 2015)

Pada penelitian ini tidak diteliti KHM dari ekstrak daun mengkudu. Hal tersebut didasari oleh hasil eksplorasi yang telah dilakukan sebelumnya. Menurut hasil eksplorasi, suspensi ekstrak daun mengkudu dan bakteri *Aa* membentuk warna keruh sehingga tidak dapat ditentukan nilai KHM. Hal ini disebabkan warna asli dari ekstrak daun mengkudu adalah hijau kehitaman, disamping itu kekeruhan yang terjadi karena terdapat reaksi antara ekstrak dengan nutrient broth yang digunakan, sehingga sulit untuk menafsirkan derajat kekeruhan dalam tabung.

KBM ditentukan dengan cara menghitung jumlah koloni pada medium hasil *striking* yang berjumlah $< 0,1\%$ dari original inoculum. Dari hasil perhitungan yaitu $0,1\% \times 1433 = 1,433$ koloni, jadi konsentrasi terendah yang mampu menumbuhkan kurang dari sama dengan 1,433 koloni bakteri ditetapkan sebagai KBM. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa pertumbuhan koloni yang jumlahnya $< 0,1\%$ dari original inoculum pada semua pengulangan terdapat pada konsentrasi 8%. Maka dapat ditentukan KBM dari ekstrak daun mengkudu pada penelitian ini adalah pada konsentrasi ekstrak 8%.

Daya antimikroba ekstrak daun mengkudu konsentrasi 10% dapat dikatakan kuat karena sama-sama memiliki rata-rata jumlah koloni sebanyak 0 jika dibandingkan dengan klorheksidin. Hal ini menandakan bahwa ekstrak daun mengkudu dengan konsentrasi 10% memiliki kekuatan yang sama dengan klorheksidin sebagai antimikroba untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

Uji normalitas dilakukan untuk menentukan apakah data hasil penelitian bisa dilakukan uji *One Way ANOVA*. Hasil uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* didapatkan bahwa signifikansi jumlah koloni bakteri sebesar 0,450 ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa rerata jumlah koloni bakteri berdistribusi

normal. Uji homogenitas varian data menggunakan uji *Levene* untuk menguji apakah data homogen atau tidak. Hasil uji didapatkan signifikansi data sebesar 0,055 ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa data memiliki ragam varians yang sama (homogen). Uji *One Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kedelapan kelompok perlakuan karena nilai p sebesar 0,000 ($p < 0,005$), sehingga kesimpulan yang didapatkan adalah terdapat perbedaan yang bermakna pemberian ekstrak daun mengkudu terhadap bakteri *Aa*.

Selanjutnya, Uji Post Hoc dilakukan untuk melihat masing-masing kelompok yang berbeda. Uji korelasi *Pearson* digunakan untuk mengukur kekuatan dan arah hubungan linier dari dua variable. Hasil uji korelasi *Pearson* menunjukkan kekuatan korelasi sebesar 0,840 dengan arah korelasi negatif. Arah korelasi negatif menunjukkan bahwa semakin tinggi jumlah konsentrasi ekstrak daun mengkudu yang diberikan, maka jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Aa* semakin menurun dan diperoleh persamaan garis linier yaitu:

$$Y = 974.369 - 102.292X$$

Arti dari persamaan diatas adalah apabila variabel X meningkat sebanyak 1 kali, maka variabel Y akan menurun sebesar 102.292 CFU/ml. Hasil persamaan regresi tersebut sesuai dengan pernyataan Dzen pada tahun 2003, bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu zat, maka semakin tinggi pula daya anti mikrobanya.

Uji regresi menunjukkan bahwa pengaruh pemberian ekstrak daun mengkudu terhadap penurunan jumlah koloni bakteri *Aa* adalah sebesar 70.5%. Hal ini berarti ekstrak daun mengkudu cukup kuat dalam memengaruhi penurunan koloni bakteri *Aa*.

Penelitian ini sejalan dengan kemampuan klorheksidin sebagai antimikroba yang memiliki mekanisme kerja yang mirip dengan ekstrak daun mengkudu, yaitu saponin dan triterpenoid yang berinteraksi dengan membran sel bakteri. Interaksi ini menyebabkan meningkatnya permeabilitas membran dan menyebabkan lisisnya sel bakteri (Balagopal and Arjunkumar, 2013; Grupta *et al.*, 2012).

Mekanisme kerja saponin yaitu mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang menyebabkan kerusakan pada membran sel dan mengakibatkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida. Mekanisme kerja triterpenoid yaitu dengan merusak membran oleh senyawa lipofilik, sehingga menyebabkan membran sel lisis atau mengkoagulasi sitoplasma dari sel bakteri. Hal ini akan menyebabkan pertumbuhan sel bakteri *Aa* menjadi terhambat hingga menyebabkan kematian sel bakteri *Aa* (Diassanti, 2011)

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L*) mampu berperan sebagai antimikroba dengan efektivitas yang sama seperti klorheksidin glukonat. Konsentrasi efektif yang sebaiknya digunakan adalah konsentrasi 8% karena dalam penelitian ini konsentrasi 8% merupakan kadar bunuh minimum (KBM). Penelitian ini diharapkan bermanfaat sebagai referensi untuk penelitian lebih lanjut dalam bidang mikrobiologi dan periodontologi sebagai alternatif obat dengan efek samping yang minimal karena berasal dari herbal. Penelitian ini masih perlu diteliti lebih lanjut agar dapat diaplikasikan langsung kepada manusia sebagai alternatif obat yang aman pada penderita periodontitis agresif akibat *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.